

# INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	3
INDICE DE CONTENIDO .....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
RESUMEN.....	8
ABSTRACT .....	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
1.1 Dolor y nocicepción .....	11
1.2 Canales iónicos .....	12
1.3 Canales iónicos relacionados con la nocicepción .....	15
1.4 Súper familia de canales receptores de potencial transitorio (TRP).....	16
1.5 Receptor de potencial transitorio vaniloide tipo 1 (TRPV1) .....	18
1.5.1 Caracterización estructural de TRPV1 .....	21
1.5.2 Desensibilización de TRPV1.....	26
1.5.3 Datos experimentales de mutantes en el residuo Tyr671.....	29
1.5.4 Datos experimentales de mutantes en el residuo K639 .....	33
2. HIPÓTESIS .....	36
3. OBJETIVOS .....	36
3.1 Objetivos General.....	36
3.2 Objetivos Específicos .....	36
4. METODOLOGÍA.....	37
4.1 Fundamentos Teóricos .....	37
4.1.1 Dinámica Molecular. ....	37
4.1.2 Unitedatom .....	38
4.1.3 Algoritmo HOLE.....	39
4.1.4 APBS ( Adaptative Poisson-Boltzmann Solver) .....	40
4.1.5 Dinámica molecular bajo un Potencial eléctrico.....	41
4.2 Descripción de las Metodologías .....	43
4.2.1 Modelamiento comparativo.....	43
4.2.2 Dinámica molecular .....	43
4.2.3 Cálculos de HOLE .....	49

4.2.4	Cálculos PMF/APBS.....	49
4.2.5	Dinámicas moleculares bajo potencial eléctrico.....	50
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	51
5.1	Análisis de los efectos estructurales y energéticos de mutantes en el poro de TRPV1. ....	51
5.1.1	Análisis de sistema WT .....	51
5.1.2	Análisis de los sistemas mutados .....	58
5.2	Dinámica Molecular bajo Potencial Eléctrico.....	70
6.	CONCLUSIÓN.....	76
7.	REFERENCIAS .....	78
8.	ANEXOS.....	87

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representación del paso de moléculas a través de la membrana celular. ....	13
Figura 2: Representación del gating en canales iónicos.. .....	14
Figura 3: Canales iónicos involucrados en la nocicepción.. .....	15
Figura 4: Canales TRP involucrados en el sistema sensorial.....	17
Figura 5: Sub-grupo de canales Termo-TRPs.....	18
Figura 6: Representación de la estructura de capsaicina.....	19
Figura 7 : Representación de la estructura y flujo iónico de TRPV1.....	20
Figura 8 : Putativa estructura tridimensional de TRPV1.....	21
Figura 9: Representación del canal TRPV1. ....	22
Figura 10 : Alineamiento de la secuencia de poro de TRPV1 con otros canales TRPV y canales de K <sup>+</sup> .....	25
Figura 11: Representación del proceso de desensibilización del canal TRPV1. (Modificado de Mosavi y cols. 2004) . ....	28
Figura 12: Representación de la disposición del residuo Y671 en el poro de TRPV1.. ....	29
Figura 13: Representación de la secuencia del alineamiento entre TRPV1 y D4-S6.....	30
Figura 14: Aplicaciones repetitivas de capsaicina en una solución con Ca <sup>2+</sup> .....	31
Figura 15: Permeabilidad a Na <sup>+</sup> y Ca <sup>2+</sup> de los canales WT y mutantes. ....	32
Figura 16: Disposición de los residuos E636, D646 y K639 en el poro del canal TRPV1. ....	33
Figura 17: K639 modula la conductancia del canal y la inhibición por protones.. .....	34
Figura 18: Tipos de representación atómica.. .....	39
Figura 19: La imagen muestra el radio máximo del algoritmo HOLE. ....	40
Figura 20: Representación del potencial eléctrico aplicado, de reacción y resultante. ....	42
Figura 21: Representación de la conformación del sistema. ....	44
Figura 22: Lípidos en modelo all-atom y united-atom.....	46
Figura 23: Representación de los sistemas solvatados con 15 Å y 40 Å.....	48
Figura 24: Simulación del sistema del canal TRPV1.....	52
Figura 25: RMSD proteína v/s tiempo de simulación.....	53
Figura 26: Resultados de HOLE en el sistema WT. ....	54
Figura 27: Perfil energético en WT a través del Eje Z.....	55
Figura 28: Comparación de los resultados de PMF/APBS y ABF.....	57
Figura 29: RMSD del residuo 671 para los sistemas Y671K y Y671R. ....	58

Figura 30: Imagen del RMSD de los residuos Y671 y K639 durante 4 ns de simulación..	59
Figura 31: Diámetro del poro v/s Eje Z para WT comparado con las mutantes simples...	61
Figura 32: Superficie de HOLE para el poro iónico de WT y la mutante Y671D. ....	62
Figura 33: Perfil energético v/s Eje Z de todas las mutantes simples y en estado silvestre	63
Figura 34: Perfil energético obtenido para WT y K639K0.....	64
Figura 35: Perfil energético obtenido en las mutantes dobles. ....	65
Figura 36: Energía electrostática de unión para el ión $Ca^{2+}$ v/s Eje Z de todas las mutantes.....	66
Figura 37: Mapas de potencial electrostático de WT, Y671D y Y671K.....	67
Figura 38: Mapas de potencial eléctrico del canal silvestre y el sistema con el residuo K639 protonado. ....	68
Figura 39: Efecto electrostático de la neutralización del residuo K639 en las mutantes Y671D y Y671K. ....	69
Figura 40: Representación de la estructura cristalográfica del canal KcsA. ....	70
Figura 41: RMSD obtenido de la trayectoria de la simulación del canal KcsA.....	71
Figura 42: Diámetros del poro de los canales KcsA y TRPV1.....	72
Figura 43: Energía Electrostática de unión que percibe un ión $K^+$ al atravesar los canales TRPV1 y KcsA.....	73
Figura 44: Flujo iónico contabilizado en las dinámicas moleculares de los canales KcsA y TRPV1.....	74